

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.  
9. Jg., S. 155—163, März 1971

## Tryptophan-Stoffwechseluntersuchungen bei Pyridoxin-abhängigen Krämpfen

Von W. KOCHEN

*Aus dem Isotopenlabor der Universitäts-Kinderklinik (Direktor: Prof. Dr. H. Bickel) Heidelberg*

(Eingegangen am 16. November 1970)

Aus einer Familie mit 5 Kindern verstarben zwei im Säuglingsalter an Therapie-resistenten Krämpfen, zwei Kinder sind klinisch gesund, ein Kind leidet an Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen. Bei den drei lebenden Kindern (2., 4. und 5. Kind) werden die Abbauprodukte des Tryptophan im Urin sowohl vor wie nach Belastung mit L-Tryptophan bestimmt. —

Das an Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen leidende vierte Kind zeigt unter Vitamin-B<sub>6</sub>-Langzeit-Therapie ein im wesentlichen normales Ausscheidungsmuster der Tryptophan-Metabolite. Nach Absetzen der Vitamin-B<sub>6</sub>-Therapie nimmt die Ausscheidung der oxydativen Abbauprodukte ab. Zwölf Tage nach Unterbrechung der Therapie setzt ein Grand-Mal Anfall ein, der nach Injektion von 200 mg Pyridoxin innerhalb von Minuten sistiert. Das Ausscheidungsmuster der Metabolite bleibt aber weiterhin anormal, eine Normalisierung tritt erst zwischen dem 10. und 20. Tag nach Wiederaufnahme der Therapie ein. In dem Urin vor dem Krampfanfall wird eine Substanz vermehrt ausgeschieden, die als 8-Hydroxy-chinaldinsäure identifiziert wird. Unter Vitamin-B<sub>6</sub>-Therapie kann dieser Metabolit nicht nachgewiesen werden. Es wird ein Zusammenhang zwischen der Bildung dieses Metaboliten und dem geschilderten Krampfgeschehen vermutet. Aus bisherigen Untersuchungen wird die 8-Hydroxy-chinaldinsäure im Urin von gesunden Kindern und Erwachsenen nicht gefunden.

### *An investigation of tryptophan metabolism in a case of convulsions caused by pyridoxine dependency*

In a family with 5 children, two children died in infancy of convulsions which were resistant to therapy, two children are clinically healthy and one child suffers from convulsions which are dependent on vitamin B<sub>6</sub>. The amounts of tryptophan metabolites in the urine of the latter three children (2nd, 4th and 5th child) were determined before and after loading with L-tryptophan. —

The 4th child which suffers from vitamin-B<sub>6</sub>-dependent convulsions shows an essentially normal elimination pattern of the tryptophan metabolites under vitamin-B<sub>6</sub>-therapy. When the vitamin-B<sub>6</sub>-therapy is stopped, however, the amounts of oxidative degradation products of tryptophan are markedly decreased. Twelve days later a Grand-Mal seizure sets in, which ceases immediately when 200 mg pyridoxine are injected. The elimination pattern remains abnormal. A normal excretion is observed between the 10th and 20th day after vitamin-B<sub>6</sub>-therapy is resumed. A substance which is identified as 8-hydroxy-quinaldic acid is found in increased amounts in the urine before the seizures. This substance cannot be detected in the urine during vitamin-B<sub>6</sub>-therapy. It has not been found as yet in the urine of healthy children or adults. It is suggested that a connection exists between the seizure and the appearance of 8-hydroxy-quinaldic acid in the urine.

Bei den „Pyridoxin-abhängigen Krämpfen“ im Säuglingsalter handelt es sich um ein metabolisch-genetisches Anfallsleiden. Diese Krämpfe können nur durch eine fortgesetzte, mehr oder weniger große Zufuhr von Vitamin B<sub>6</sub> kupiert werden. Unter einer frühzeitig eingesetzten Vitamin-B<sub>6</sub>-Dauertherapie verläuft die weitere Entwicklung des Säuglings normal. Fehldiagnose oder zu spät gestellte Diagnose führen zum Tod oder zu schwersten hirnnorganischen Defekten.

Die Pathogenese ist ungeklärt. Allgemeine labor-diagnostische Untersuchungen ergaben bisher keine gezielten Hinweise. Die mehrfach geäußerte Annahme einer „Vitamin-B<sub>6</sub>-Verwertungsstörung“ (1) kann wissenschaftlich nicht — oder noch nicht — belegt werden. Die Serumkonzentration von Pyridoxal-5-phosphat liegt im Normbereich (2, 3), die Ausscheidung der 4-Pyridoxinsäure ist dagegen vermindert (3).

Bisher sind in der gesamten Literatur 19 Fälle von Pyridoxin-abhängigen Krämpfen beschrieben worden (1). Diesen Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen (Vitamin-B<sub>6</sub>-dependency) stehen die Vitamin-B<sub>6</sub>-Mangelkrämpfe (Vitamin-B<sub>6</sub>-deficiency) gegenüber. Zur Differentialdiagnose hat sich seit Jahren der sog. Xanthurensäure-Test nach Tryptophanbelastung eingebürgert. Im Gegensatz zur Vitamin-B<sub>6</sub>-Abhängigkeit

wird bei Vitamin-B<sub>6</sub>-Mangel die Xanthurensäure anormal vermehrt ausgeschieden. Jedoch sind gegen diesen Test erheblich Bedenken zu erheben (4).

Die Annahme einer Vitamin-B<sub>6</sub>-Verwertungsstörung könnte bei denjenigen enzymatischen Reaktionen geprüft werden, die Pyridoxal-5-phosphat als Cofaktor benötigen. Als ein geeignetes System bietet sich der Tryptophan-Abbau an, bei dem die enzymatischen Spaltungen von Kynurenin bzw. 3-Hydroxy-kynurenin zu Anthranilsäure bzw. 3-Hydroxy-anthranilsäure, die Bildung von Kynurensäure und Xanthurensäure, die Decarboxylierungen von Chinolinsäure zu Nicotinsäure und von 5-Hydroxy-tryptophan zu Serotonin, Pyridoxal-5-phosphat-abhängig sind.

Im folgenden werden die Ausscheidungsprodukte des Tryptophans im Urin bei einem Kind mit eindeutig nachgewiesenen Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen untersucht. Analoge Stoffwechselstudien werden bei zwei klinisch gesunden Geschwisterkindern durchgeführt.

### Kasuistik

Unter den noch lebenden Kindern der Familie befindet sich ein Kind, bei dem in unserer Klinik ein Pyridoxin-abhängiges Anfallsleiden nachgewiesen wurde (4). Bei zwei im frühen Säug-

lingsalter an therapieresistenten Krämpfen verstorbenen Geschwistern ist die genaue Diagnose nicht bekannt, doch liegt die Vermutung nahe, daß bei ihnen eine analoge Vitamin-B<sub>6</sub>-Abhängigkeit bestanden hat.

Die Eltern sind klinisch gesund, erbliche Krankheiten sind in ihrer Aszendenz nicht festzustellen. Ihr erstes Kind begann am 9. Lebenstag an Krämpfen zu leiden, die therapieresistent waren. Der Tod trat nach 10 Wochen ein. Das sechs Jahre später geborene dritte Kind zeigte ebenfalls seit dem 9. Lebenstag Krämpfe. Eine geringe Besserung wurde nach Verabreichung von Comital<sup>1)</sup> beobachtet. Im EEG fand sich eine Hypsarrhythmie. Im Verlauf der ersten Monate wurde ein schwerer Cerebralschaden mit Tetraspastik festgestellt, eine Besserung durch ACTH trat nicht ein. Nach 9 Monaten verstarb das Kind im status epilepticus. Die noch lebenden Geschwister (2., 4. und 5. Kind) wurden in der hiesigen Klinik untersucht. Das zweite Kind zeigte bisher eine unauffällige Entwicklung. Seit der Einschulung wurden von den Eltern Schlafstörungen beobachtet. Der IQ beträgt nach Kramer 0,91, die Merkfähigkeit und die visomotorischen Leistungen sind um 1–2 Jahre rückläufig. Klinisch und neurologisch besteht kein krankhafter Befund. Das EEG zeigt eine geringe allgemeine Verlangsamung, es ist jedoch nicht eindeutig pathologisch.

Das vierte Kind zeigte zuerst eine normale psychomotorische Entwicklung, bis im 3. Lebensmonat plötzlich Schreiattacken auftraten, denen nach 3 Tagen Grand-Mal Anfälle von 2 Stdn. Dauer folgten. Trotz Verabreichung von Luminaletten<sup>1)</sup> wiederholten sich die Anfälle in den folgenden Tagen. Bei Aufnahme in die hiesige Klinik konnte ein bisher therapieresistenter Anfall mit 375 mg Benadon<sup>1)</sup> i. v. durchbrochen werden. In der Folgezeit wurde unter täglich 40 mg Pyridoxin ein normales EEG erhalten. Sechs Tage nach Vitamin-B<sub>6</sub>-Entzug wurde wieder ein pathologisches EEG registriert. Unter täglicher Vitamin-B<sub>6</sub>-Zufuhr verlief nunmehr die psychomotorische Entwicklung normal, Krampfanfälle wurden nicht mehr beobachtet.

Das fünfte Kind zeigte klinisch und neurologisch keine krankhaften Befunde. Alle EEG Ableitungen waren normal.

## Methodik

Der Sammelurin wird tiefgefroren bis zur Aufarbeitung aufbewahrt. Die Auftrennung der Tryptophan-Metabolite erfolgt säulenchromatographisch auf dem starksauren Kationenaustauscher Amberlite IR-120/AS. Eluiert wird mit zwei flüchtigen wäsr. Ameisensäure/Pyridin Gemischen vom pH 2,20 und 2,60. Die gefriergetrockneten Fraktionen werden dünnschichtchromatographisch untersucht (Cellulose Machery u. Nagel mit Fluoreszenzindikator, Laufmittel Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:5 v/v). Die quantitative Auswertung nach einer 2. Chromatographie erfolgt direkt auf der Dünnschichtplatte (Cellulose und Polyamid Fertigplatten von Merck) mit Hilfe des Dünnschicht-Fluorometers nach TURNER (Firma Camag, Schweiz) und/oder nach Anfärbung und Auswertung mit dem Dünnschicht-Spektralphotometer der Firma Zeiss. Einzelheiten über den Trennungsgang der oxydativen Metabolite siehe KOCHEN und Mitarbeiter (5), über die Trennung der Indolverbindungen siehe KOCHEN (6). In Zweifelsfällen wird zur sicheren Identifizierung der Indolverbindungen und zur Unterscheidung von Anthranilsäure und 3-Hydroxy-anthranilsäure die Gaschromatographie angewendet (6).

## Ergebnisse

### Untersuchungen bei dem Kind mit Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen

Drei Jahre nach Ausbruch der Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfe werden bei dem 4. Kind die Tryptophan-Stoffwechseluntersuchungen durchgeführt. Vom 3. Le-

bensmonat an hatte das normal entwickelte Kind täglich 40 mg Pyridoxin oral erhalten. Unter Fortführung dieser Therapie wird der Urin (Basalurin) untersucht und die L-Tryptophan Belastung (0,10 g/kg KG) durchgeführt. Der Basalurin (Abb. 1, A) zeigt eine im Normbereich liegende Ausscheidung der Metabolite des oxydativen Abbaus, wobei zu bemerken ist, daß alle Hauptmetabolite mit Ausnahme von Anthranilsäure nachgewiesen werden können. Nur Kynurenin muß als erniedrigt angesehen werden. Nach unseren bisher vorliegenden Untersuchungen werden bei Kindern und auch bei Erwachsenen (5) nur in seltenen Fällen alle diese 6 Metabolite des oxydativen Abbaus gleichzeitig im Urin ausgeschieden. Tabelle 1 gibt die Normalwerte wieder bei Kindern (n = 10) im Alter zwischen 1/4 und 7 Jahren sowohl vor wie nach Belastung mit L-Tryptophan.

Tab. 1  
Normalwerte der Tryptophanmetabolite im Harn von Kindern vor und nach Tryptophanbelastung (100 mg/kg KG)

	Vor Belastung mg/24-Stdn.-Urin	24 Stdn. nach Belastung Normalwert ohne Belastung mal
Kynurenin	0,6–2,6	10–20
Kynurensäure	1,0–2,5	3–5
3-Hydroxy-kynurenin	0,2–0,7	3–4
Xanthurensäure	0,5–2,0	5
Anthranilsäure	0	< 5 mg
3-Hydroxy-anthranilsäure	< 1,0	8

Die quantitative Ausscheidung der Indolverbindungen liegt im Normbereich mit Ausnahme der 5-Hydroxy-indolessigsäure, deren Konzentration bei Kontrollkindern (n = 5) immer niedriger ist als die der Indolessigsäure.

Nach Tryptophan-Belastung (Abb. 1, B) liegt die vermehrte Ausscheidung des Kynurenin und der Kynurensäure im Normbereich, die der 3-Hydroxy-anthranilsäure ist erhöht. Auffallend ist die nur geringe Erhöhung des 3-Hydroxy-kynurenin. Unter den Indolen wird als neuer Metabolit die Indolmilchsäure ausgeschieden. Bemerkenswert ist die unerklärliche Abnahme der 5-Hydroxy-indolessigsäure. Aus Abbildung 1 ersieht man ferner, daß die Metabolite das Maximum ihrer Ausscheidung innerhalb der ersten 9 Stdn. nach Belastung haben, während in der restlichen 24 Stdn.-Periode nur noch sehr geringe Mengen von Xanthurensäure, Indolessigsäure, 5-Hydroxy-indolessigsäure und Tryptophan ausgeschieden werden.

Nunmehr wird die tägliche Vitamin-B<sub>6</sub>-Therapie unterbrochen. Die Urinuntersuchung nach 6 Tagen zeigt ein signifikantes Absinken der Metaboliten-Ausscheidung, das bis zum völligen Versiegen von 3-Hydroxy-kynurenin, Kynurensäure und von 3-Hydroxy-anthranilsäure führt. Selbst die 5-Hydroxy-indolessigsäure, die unter hoher Vitamin-B<sub>6</sub>-Zufuhr massiv ausgeschieden wird, sinkt nunmehr auf Null. Dagegen steigt die Tryptophan-Ausscheidung auf einen Wert wie nach einer Belastung an (Abb. 1, C).

Dieses Ausscheidungsmuster kann nicht als normal angesehen werden. Bei gesunden Kindern dieser

<sup>1)</sup> Comital = Diphenylhydantoin + N-Methyl-äthylphenyl-barbitursäure, Luminaletten = Phenyläthyl-barbitursäure, Benadon = Pyridoxinhydrochlorid.

# Gastrokamera-Untersuchung

## Grundlagen

Untersuchungstechnik, Bildbeurteilung, Ergebnisse

mit den Referaten des Ersten Gastrokamera-Seminars, 13.—15. Juni 1969, Berlin

### Herausgegeben von Dozent Dr. H. Oshima

Gastprofessor an der Freien Universität Berlin, Nippon-Ika-Universität Tokyo,  
Präsident der European Association for Gastrokamera Diagnosis,  
unter Mitarbeit von Dr. W. BERGEMANN, Berlin

Oktav. VIII, 146 Seiten. Mit 33 Abbildungen. 1971. Kartoniert DM 20,—

Die Gastrokamera-Untersuchung, ein schnelles, einfaches und beschwerdearmes Verfahren zur intragastralen farbigen Fotografie für die Magen-Diagnostik hat in Europa in den letzten Jahren eine zunehmende Bedeutung erlangt.

Vom 13.—15. 6. 1969 wurde das *Erste Gastrokamera-Seminar* im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin veranstaltet.

Die verschiedenen Gastrokamera-Modelle, die Untersuchungstechnik und besonders die Beurteilungsmethode sowie -kriterien wurden als Schwerpunkte behandelt.

Durch die Berichte der verschiedenen Untersucher aus 6 europäischen Ländern wurde der derzeitige Stand der Gastrokamera-Diagnostik in Europa dargelegt.

Die etwa 300 Teilnehmer aus 9 europäischen Ländern bewiesen das rege Interesse an dieser Untersuchungsart.

An einer weiter zunehmenden Bedeutung dieses diagnostischen Verfahrens ist bei der Häufigkeit von Magenenerkrankungen, insbesondere des Magenkrebses nicht zu zweifeln. Dazu soll die Herausgabe dieser Verhandlungsberichte als Leitfaden der Gastrokamera-Untersuchung beitragen.

In Vorbereitung:

### II. Europäisches Gastrokamera-Symposium

vom 27. 2.—1. 3. 1970

von H. OSHIMA und W. BERGEMANN

Etwa 176 Seiten. Etwa DM 24,—



Walter de Gruyter · Berlin · New York

# BIOCHIMIE

Edité par la Société de Chimie Biologique

tel est le titre  
sous lequel paraîtra à partir de 1971

le „BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE“

## SECRÉTARIAT

de la Société de Chimie Biologique

J. P. EBEL, Secrétaire Général (Relations Extérieures)  
R. PERLES, Secrétaire Général

## REDACTION

F. GROS, Secrétaire scientifique  
F. PERCHERON, Secrétaire à la Publication  
J. NUNEZ, Secrétaire à l'Information  
Y. RAOUL, Secrétaire à l'Edition

SECRETARIAT et REDACTION: 4 Avenue de l'Observatoire, PARIS 6°

12 FASCICULES

ABONNEMENTS: FRANCE et ZONE FRANC: 150 ffrcs · BELGIQUE: 1.687,— frcs · AUTRES PAYS: 186,— ffrcs

MASSON et Cie, Editeurs · 120 Boulevard St Germain · PARIS 6ème



## Thyristor-Regler



zur stufenlosen Einstellung der Ausgangsspannung zwischen 20 und 220 V bei Regelung der Drehzahlen von Universalmotoren, Bohrmaschinen, Hell-Dunkelsteuerung von Lampen sowie der Heizleistung von Heizplatten.

Technische Daten: 5 A, funkentstört nach Störgrad N (VDE 0875), Phasenschnittsteuerung durch Triac.

Informationsmaterial liegt für Sie bereit.

**IKA-WERK · JANKE & KUNKEL KG**  
Chemisch physikalische Geräte, Apparate und Maschinen  
7813 Staufen/Br., Neumagenstr. 16, Telefon 07633/6036  
Telex 722922

**Wir  
stellen vor:**

Abb. 1

Viertes Kind, Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängige Krämpfe: Ausscheidung von Tryptophan-Metaboliten im Urin

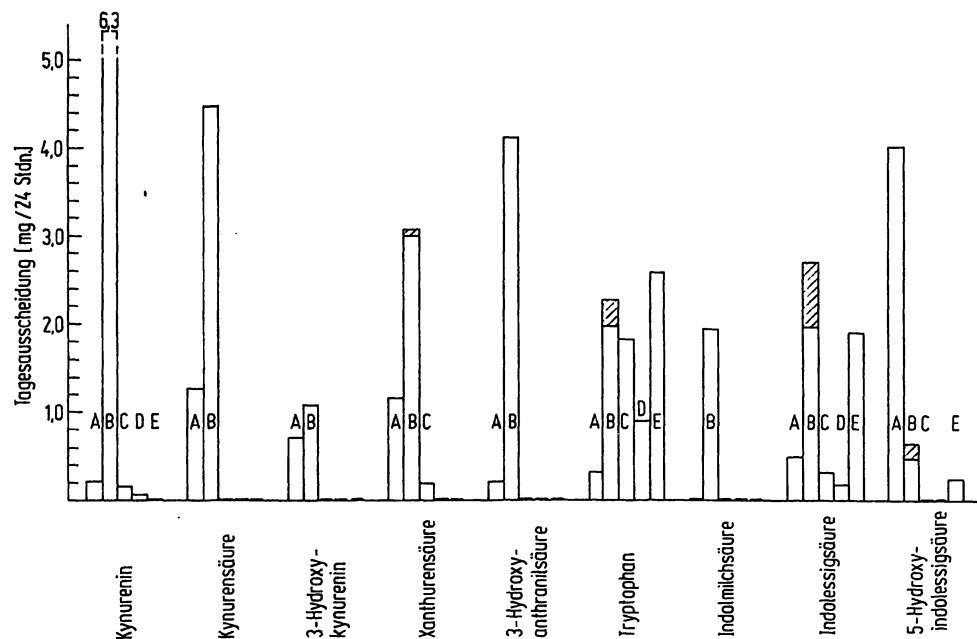
A = Basalurin bei Gabe von < 40 mg Pyridoxin/Tag

B = Belastung mit 1,5 g L-Tryptophan, Ausscheidung in den ersten 9 Stdn.; erfolgt in der restlichen 24-Stdn.-Periode noch eine weitere Ausscheidung, ist diese Angabe schraffiert

C = Basalurin, 6 Tage nach Absetzen von Pyridoxin

D = Basalurin, 12 Tage nach Absetzen von Pyridoxin (Grand-Mal Anfall, 200 mg Pyridoxin iv.)

E = Basalurin, 9 Tage nach Krampfanfall, wieder Pyridoxin Therapie. Angabe in mg/24-Stdn.-Sammelurin, Ausnahme unter B



Altersstufe finden wir gelegentlich auch nur Kynurenin und Xanthurensäure, die Werte liegen dann bei etwa 1 mg/24 Stdn. und eine Tryptophan-Ausscheidung über 1 mg ist nicht zu beobachten.

Zu diesem Zeitpunkt (6 Tage nach Absetzen von Vitamin B<sub>6</sub>) können im EEG keine Abnormalitäten festgestellt werden. Der Einfluß der Pyridoxin-Therapie auf den Tryptophan-Stoffwechsel ist also bei diesem Kind mit Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen signifikant sichtbar.

Zwölf Tage nach Absetzen der Vitamin-B<sub>6</sub>-Therapie tritt eine Krampfanfall auf, der durch 200 mg Pyridoxin iv. nach wenigen Minuten kupiert werden kann. Die Untersuchung des nach dem Grand-Mal Anfall folgenden 24 Stdn.-Urins zeigt trotz der hohen Vitamin-B<sub>6</sub>-Injektion keine Erhöhung der Metaboliten-Ausscheidung.

Xanthurensäure kann nicht mehr nachgewiesen werden, die Ausscheidung des Kynurenin und der Indolelessigsäure sinken weiter ab (Abb. 1, D). Das Kind hatte ab 3. Tag nach dem Anfall — es hatte sich inzwischen klinisch wieder erholt — 5 mg Vitamin-B<sub>6</sub>/Tag erhalten. Jedoch mußte die Dosis auf 10 mg/Tag erhöht werden, da nur unter dieser Dosierung die im EEG registrierbaren geringfügigen Abnormalitäten wieder verschwanden.

Am 9. Tag nach dem Anfall, d. h. 6 Tage nach Wiederaufnahme der Vitamin-B<sub>6</sub>-Therapie, wird immer noch kein normales Ausscheidungsmuster festgestellt. Metabolite des oxydativen Abbaues können dünn-schichtchromatographisch überhaupt nicht nachgewiesen werden. Dagegen werden Tryptophan und Indolelessigsäure vermehrt ausgeschieden (Abb. 1, E). Eine Urinuntersuchung 3 Wochen nach dem Anfall ergab erst wieder ein Ausscheidungsmuster, das als normal zu bezeichnen ist und in Übereinstimmung steht mit den Ergebnissen von Abb. 1, A.

#### Untersuchung unbekannter Stoffwechselprodukte

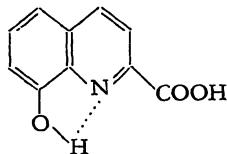
Durch die angewandte analytische Methode, unter konstanten Bedingungen der Säulenchromatographie die Fraktionen dünn-schichtchromatographisch zu untersuchen, ist ein Vergleich der Urine möglich, ohne daß die Substanz zonen im einzelnen identifiziert werden können. Diese Methode zeigt ihren Wert besonders bei der Urinuntersuchung vor und nach Tryptophan-Belastung. Außer den uns z. Z. bekannten Metaboliten des Tryptophan werden bei dem Kind mit Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen nach Tryptophan-Belastung 17 neue Metabolite beobachtet, die vor der Belastung dünn-schichtchromatographisch nicht nachgewiesen werden können. Diese Substanzen fluoreszieren alle auf der Dünnschichtplatte. Aufgrund der UV-Spektren und der Anfärbergegebnisse wird bei 12 Metaboliten ein Zusammenhang zum Tryptophan-Stoffwechsel angenommen.

Zwei Metabolite mögen näher beschrieben werden, von denen einer identifiziert werden konnte.

In dem Urin unter täglicher Vitamin-B<sub>6</sub>-Zufuhr (vgl. Abb. 1, A) wird eine sehr stark fluoreszierende Substanz dünn-schichtchromatographisch nachgewiesen. Sie wird von der Amberlite Kationenaustauschersäule mit dem Puffersystem Ameisensäure/Pyridin/Wasser, pH 2,60, sofort eluiert. Die Isolierung der reinen Substanz gelang bisher nicht. Der Schmelzpunkt liegt bei 180° unter Zersetzung und Gasentwicklung. Das Maximum der Fluoreszenz liegt bei 435 nm bei einer Anregung mit 365 nm. Die Substanz wird mit Dibromchinonchlorimid blau und mit diazotierter Sulfanilsäure rot angefärbt. Die Ausscheidung dieses Metaboliten nimmt nach Tryptophan-Belastung (unter Vitamin-B<sub>6</sub>-Therapie) stark ab. Sechs Tage nach Vitamin-B<sub>6</sub>-Entzug kann er noch in geringen Mengen nachgewiesen werden. Nach Wiederaufnahme der Vitamin-B<sub>6</sub>-Behandlung tritt zuerst keine vermehrte Ausscheidung ein. Zu dem Zeit-

punkt, in dem der Tryptophan-Stoffwechsel wieder normalisiert ist (etwa 3 Wochen nach Wiederaufnahme der Vitamin-B<sub>6</sub>-Therapie) erfolgt wieder eine massive Ausscheidung.

Bei den Urinuntersuchungen des Kindes mit Vitamin-B<sub>6</sub>-Abhängigkeit fiel auf der Dünnschichtplatte eine Zone auf, die nach Absetzen des zusätzlichen Vitamin-B<sub>6</sub> zuerst nur sehr schwach zu beobachten war, deren Menge aber in dem Urin einen Tag vor dem Krampfanfall stark vermehrt zu finden war. Dies war der Grund, die Substanz zu isolieren. Sie konnte eindeutig als 8-Hydroxy-chinaldinsäure identifiziert werden.



**Isolierung:** 70 ml gefriergetrockneter Urin werden auf einer Amberlite-Kationenaustauschersäule (innerer Ø 1 cm, Füllhöhe 30 cm) chromatographiert. Mit 100 ml eines 0,3M wäßr. Pyridin/Ameisensäure-Puffers (pH 2,60) werden mehrere Pyridin- und Chinolinderivate aus dem Tryptophan-Stoffwechsel eluiert, mit einem analogen Puffer vom pH 5,60 erscheinen dann Anthranilsäure, 3-Hydroxy-anthranilsäure, Kynurenin und 3-Hydroxy-kynurenin. Zwischen den beiden letzten Metaboliten wird die 8-Hydroxy-chinaldinsäure eluiert. Die Elution erfolgt in den Fraktionen mit 70–90 ml Durchfluß des 2. Puffersystems. Insgesamt wurden aus 1,5 l Urin 7 mg reine Substanz gewonnen. Die weitere *Reinigung* erfolgt dünn-schichtchromatographisch.

Tab. 2  
Dünnschichtchromatographische Reinigung von 8-Hydroxy-chinaldinsäure

Trägermaterial <i>R<sub>F</sub></i> -Wert	Butanol/Eisessig/ Wasser 4:1:5 (v/v)		Dimethylformamid/ Wasser 7:3 (v/v)	
	Cellulose 0,75	Polyamid 0,50	Cellulose 0,75	Polyamid 0,07

Der Metabolit fluoresziert schwach rosa und wird mit diazotierter Sulfanilsäure orange angefärbt.

Die ersten Hinweise über die Struktur werden durch das UV-Absorptionsspektrum erhalten (Abb. 2).

Das Spektrum zeigt in Äthanol. Lösung (neutrales Medium) 3 Absorptionsbanden im Bereich zwischen 355 nm und 255 nm.

Die intensivste Bande liegt bei 255 nm. Die langwelligeren Banden bei 355 und 310 nm haben eine wesentlich geringere Extinktion. Solche UV-Spektren sind charakteristisch für Hydroxy-chinoline und Hydroxy-iso-chinoline, ferner für Naphthole (7). Wird die Messung in 0,01N Äthanol. NaOH wiederholt, so tritt eine bathochrome Verschiebung ein, gleichzeitig erhöhen sich die Extinktionen. Die beiden längerwelligeren Banden werden von 355 auf 395 nm und von 310 auf 343 nm verschoben, die kurzwelligste Bande von 255 auf 267 nm. Die bathochrome Verschiebung wäre durch die Überführung eines Naphthols in das Anion zu erklären. In saurem Milieu (0,01N Äthanol. HCl) ist dagegen eine Bandenverschiebung nicht festzustellen.

Diese beiden Beobachtungen stehen auch dann mit einer Chinolin- bzw. Iso-chinolinstruktur in Übereinstimmung, wenn eine Protonierung des N-Atoms aus sterischen Gründen oder durch Substituenten-Effekte verhindert wird. Diese Interpretation ist von besonderem Interesse, da sich aus dem Massenspektrum eine Chinolinstruktur ableiten läßt. Zur weiteren Abklärung kann der Befund von BIRINGER (8) angeführt werden, daß bei dem 3- bzw. 4-Methylester der 8-Hydroxy-chinaldinsäure in saurem Milieu eine Bandenverschiebung eintritt, nicht dagegen bei dem 2-Methylester. Bei einer 2-Stellung der Carboxylgruppe ist eine sterische Abschirmung des N-Atoms anzunehmen. Für die Aufnahme der folgenden Spektren wird die Substanz nochmals über einer Kieselgelsäule gereinigt, anschließend erfolgte Sublimation bei 150° und 10<sup>-3</sup> Torr. Das IR-Spektrum gibt weitere Hinweise (Abb. 3).

Das Spektrum zeigt ein kondensiertes aromatisches System an. Die aromatischen Gerüstschwingungen  $\nu_{C=C}$  sind den Banden bei 1616, 1595, 1500 und 1460 cm<sup>-1</sup> zuzuordnen (9). Die aromatischen Valenzschwingungen  $\nu_{C-H}$  der Protonen erscheinen schwach bei 3065 cm<sup>-1</sup>, die Deformationsschwingungen  $\nu_{C-H}$  („in plane“) bei 1137, 1088 und 998 cm<sup>-1</sup>, die entsprechenden „out of plane“ Schwingungen unterhalb von 900 cm<sup>-1</sup>. Die Anwesenheit einer Hydroxylgruppe wird durch die  $\nu_{O-H}$  Bande bei 3270 cm<sup>-1</sup> angezeigt. (Die Rechtsverschiebung und die Schärfe dieser Bande dürfte auf die Protonenaffinität des benachbarten N-Atoms zurückzuführen sein.) Die Zuordnung der  $\nu_{C-OH}$  Schwingung im Bereich zwischen 1200 und 1300 cm<sup>-1</sup> ist nicht eindeutig zu treffen. Eine intensive Bande bei 1645 cm<sup>-1</sup> weist auf eine Carboxylgruppe hin ( $\nu_{C=O}$ ),  $\nu_{C-O}$  asym. liegt bei 1295,  $\nu_{C-O}$  sym. bei 1150 cm<sup>-1</sup>. Die OH-Schwingung der Carboxylgruppe liegt bei etwa 2460 cm<sup>-1</sup>. Bezüglich einer Aussage über den Substitutionstyp des aromatischen Systems sind nur Hinweise möglich.

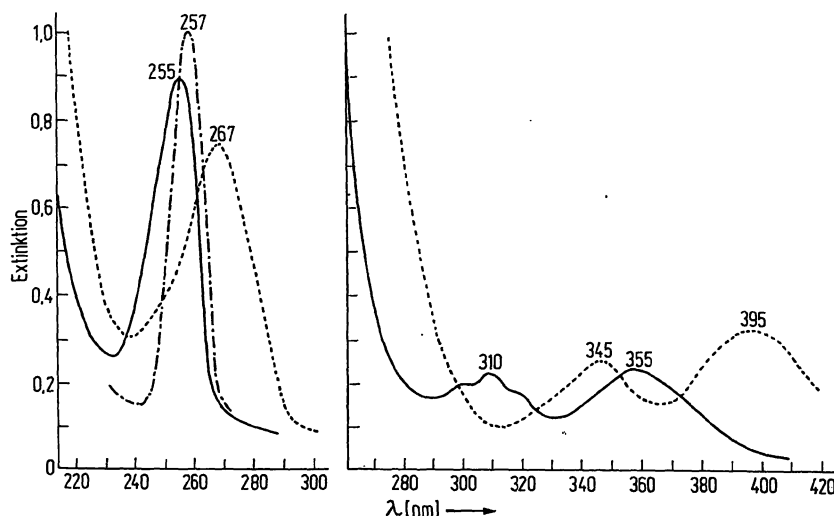
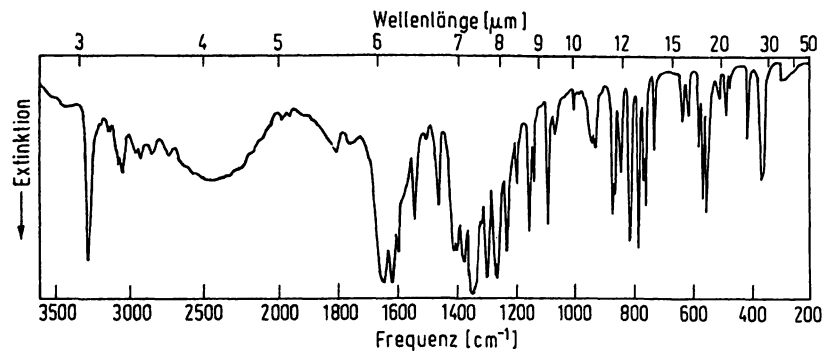


Abb. 2

UV-Absorptionsspektrum der isolierten 8-Hydroxy-chinaldinsäure in Äthanol (—), 0,01N Äthanol. HCl (---) und in 0,01N Äthanol. NaOH (·····), aufgenommen mit Spektrophotometer Cary 15

Abb. 3

IR-Absorptionsspektrum der isolierten 8-Hydroxy-chinaldinsäure, Aufnahme: 0,74 mg in 150 mg KJ mit dem PE-Spektralphotometer 621



Weitere Aufklärung bringt das Massenspektrum (Abb. 4). Der Molekülpeak zeigt eine Masse von 189 an. Da Kynurensäure dasselbe Molekulargewicht hat, das isolierte Produkt aber ein anderes chromatographisches Verhalten zeigt, nahmen wir an, daß es sich um eine stellungsisomere 5- oder 8-Hydroxy-chinaldinsäure handelt.

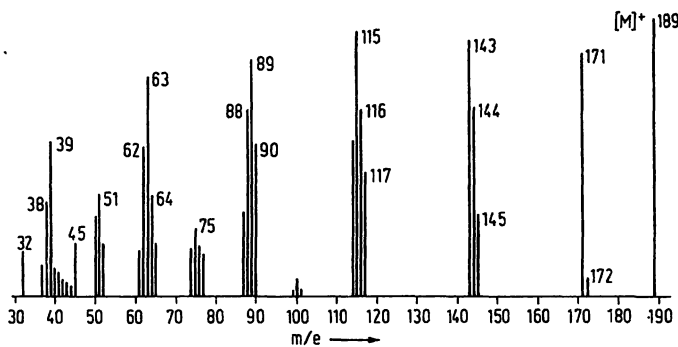


Abb. 4

Massenspektrum der isolierten 8-Hydroxy-chinaldinsäure, aufgenommen mit dem Varian MAT CH 4

Durch Abspaltung von Wasser entsteht ein Massenpeak bei 171. Unter Berücksichtigung eines massenspektrometrischen ortho-Effektes (10) kann das Proton der phenolischen Hydroxylgruppe in Stellung 8 des Chinolinringes mit der OH-Gruppe des Carboxyls in Stellung 2 als Wasser abgespalten werden. Erleichtert wird die Wasserabspaltung durch das benachbarte N-Atom, das als Brücke zur Carboxylgruppe dient. Bei der 5-Hydroxy-chinaldinsäure ist eine analoge Wasserabspaltung nicht möglich. Die nur sehr schwache Intensität der Masse 172 erklärt sich durch die geringfügige Abspaltung von OH aus der Carboxylgruppe. Die Masse 144 entsteht durch Abspaltung der seitenständigen CO-Gruppe. In geringem Umfang erfolgt auch aus dem Molekülpeak eine CO<sub>2</sub>-Abspaltung, wodurch die Masse 145 erklärt ist. Da im Molekül 2 acide Protonen angenommen werden müssen, sollte bei Behandlung mit D<sub>2</sub>O ein Molekülpeak erscheinen, der 2 Masseneinheiten größer ist. Dies konnte durch ein 2. Massenspektrum bewiesen werden: Der Molekülpeak verschiebt sich zur Masse 191. BUDZIKIEWICZ (11) fand bei 2-4- und 8-Hydroxy-chinolin primär eine intensive Abspaltung von CO aus dem Heterocyclen. Eine Bestätigung finden wir in den Massenzahlen 115, 116 und 117. Eine präformierte Chinolonform, wie z. B. bei der Masse 143, eliminiert leichter CO, daher ist die Intensität der Masse 115 größer als die von 116 und 117. Die Massen 88, 89 und 90 stellen charakteristische Bruchstücke der N-haltigen Heterocyclen dar und entstehen durch Abspaltung von C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, CO und CH<sub>2</sub>N aus der höheren Massengruppe um 115. Dem Bruchstück C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>, Massenzahl 89, kommt nach SRELLER (12) die Struktur eines Dehydrotropylum-Ions zu. Ebenso charakteristisch für diese Heterocyclen ist die Massengruppe um 63 (Massenzahl 62, 3 und 64).

Das Massenspektrum bestätigt das Vorliegen einer Hydroxy-chinolin- bzw. iso-chinolin-carbonsäure. Unter Berücksichtigung des massenspektrometrischen ortho-Effektes und des UV-Spektrums muß die Struktur einer 8-Hydroxy-chinolin-2-carbonsäure angenommen werden.

In der abgeleiteten Strukturformel befinden sich 5 Protonen am Chinolinkern. In einem NMR-Spektrum sollte sich für die beiden Protonen in Stellung 3 und 4 des Chinolinringes ein AB-System und für die 3 Protonen in Stellung 5, 6 und 7 ein ABC-System ausbilden.

Das Kernresonanzspektrum zeigt nun zwischen 8,62 und 8,11 ppm die 4 Linien eines AB-Systems an. Die Kopplungskonstante J<sub>3,4</sub> = 8,2 Hz stimmt gut mit Literaturangaben (13) über ortho-Protonen-Kopplung überein (5–9 Hz). Die Theorie ergibt, daß bei einer Iso-chinolin-Struktur J<sub>3,4</sub> einen kleineren Wert haben muß, so daß eine Iso-chinolin-Struktur ausgeschlossen werden kann. Das ABC-System zeigt insgesamt 12 Banden an und besteht aus 3 Gruppen zu je 4 Banden gemäß den 3 benachbarten Protonen. Die Absorptionen liegen zwischen 7,74 und 7,18 ppm. Die 1. Gruppe zwischen 7,74 und 7,58 ppm ist dem mittleren Proton zuzuordnen, das in ortho-Kopplung tritt zu den beiden benachbarten Protonen. Die erhaltenen Kopplungskonstanten liegen auch hier im Bereich der Literaturwerte. Die außenstehenden Protonen (Stellung 5 und 7 des Chinolinringes) verursachen die 8 Banden zwischen 7,57 und 7,18 ppm. Da diese Protonen neben der ortho-Kopplung zu dem mittleren Proton auch eine meta-Kopplung gegenseitig haben, ist die beobachtete meta-Kopplungskonstante von J = 2,0 Hz in guter Übereinstimmung mit Literaturangaben (13) 1–3 Hz).

Das NMR-Spektrum läßt keine Aussage über die Position der Hydroxylgruppe zu. Diese ist sowohl in 5- wie in 8-Stellung des Chinolinringes möglich.

Alle spektroskopischen Aussagen stehen in Übereinstimmung mit der Struktur einer 8-Hydroxy-chinolin-2-carbonsäure.

Zum abschließenden Beweis wurde diese Substanz synthetisiert. Das aufgenommene IR- und Massenspektrum steht in Übereinstimmung mit den Spektren des isolierten Produktes.

Die Synthese wurde zuerst nach der Methode von IRVING und Mitarbeitern (14) durchgeführt. Ein reineres Produkt und bessere Ausbeuten wurden nach der Synthese von BIRINGER (8) erhalten: Xanthurensäure wird mit POCl<sub>3</sub> zur 4-Chlor-8-hydroxy-chinaldinsäure umgesetzt. Die isolierte Zwischenstufe wird in 0,1N KOH gelöst und mit einem Pd/Aktivkohle-Katalysator mit Wasserstoff hydriert. F<sub>p</sub> 209° (Zersetzung). Schmelzpunkt des isolierten Produktes aus dem Urin 207–208°.

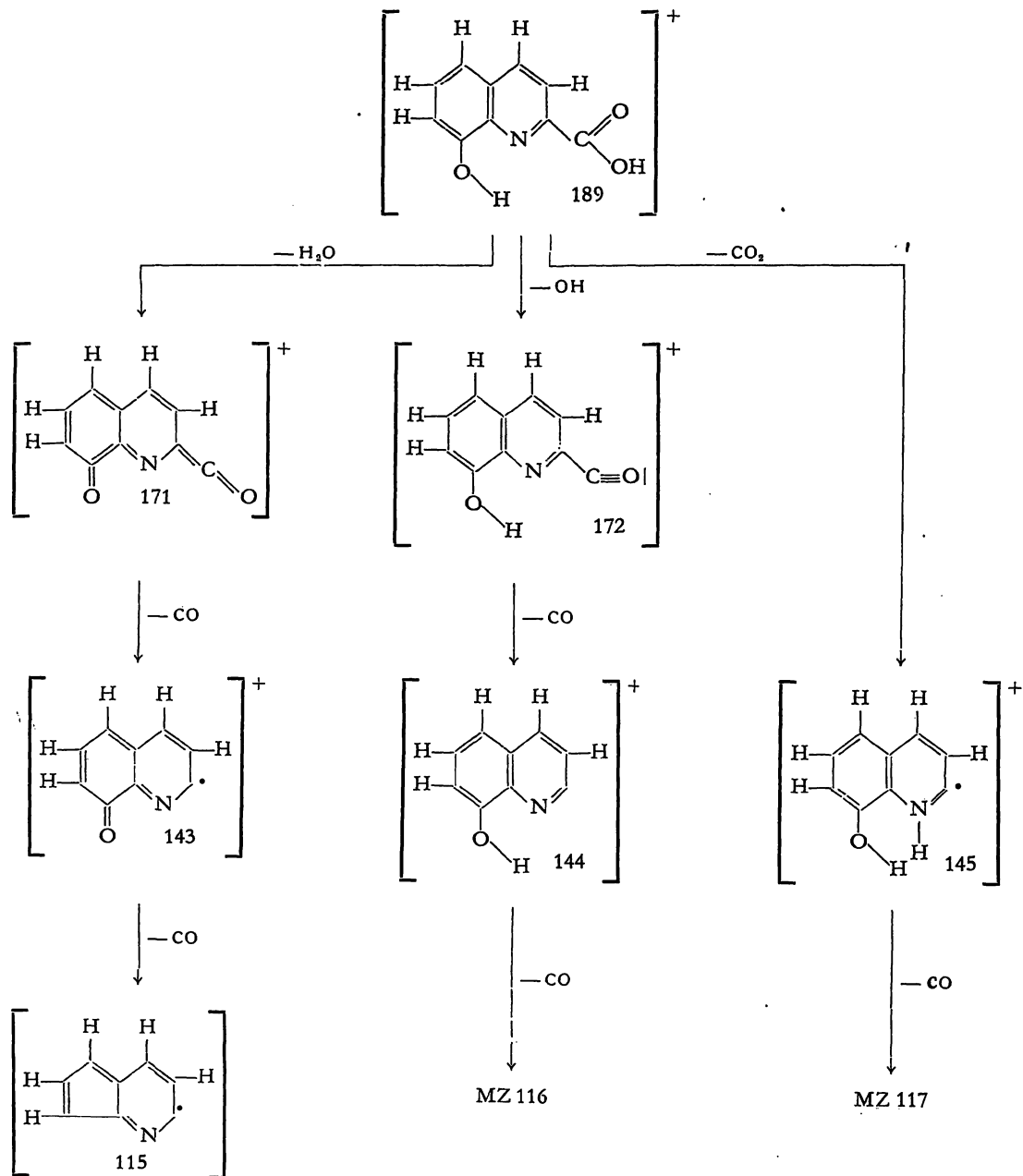


Abb. 5  
Deutung der wichtigsten massenspektroskopischen Bruchstücke

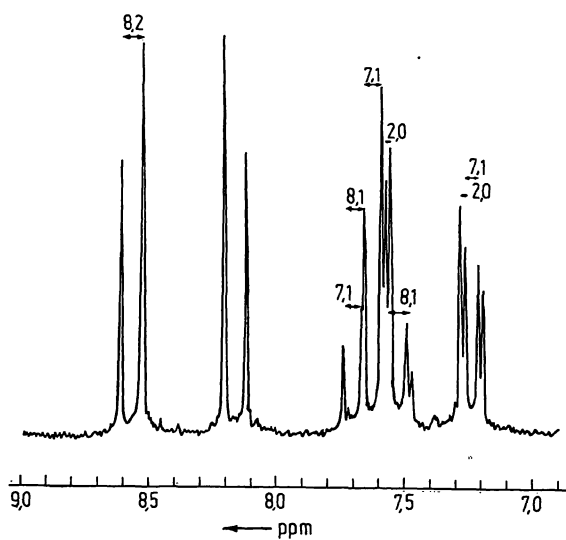


Abb. 6  
NMR-Spektrum der isolierten 8-Hydroxy-chinaldin-säure. Lösungsmittel Hexadeutero-Dimethylsulfoxyd, aufgenommen mit dem Varian HA-100



### Untersuchungen bei den beiden lebenden Geschwisterkindern

Bei dem ältesten Geschwisterkind (2. Kind, 9 Jahre alt) ergeben die Tryptophan-Stoffwechseluntersuchungen eine Besonderheit. Im Basalurin werden die oxydativen Abbaumetabolite im Normbereich nachgewiesen, dagegen tritt nach Belastung keine vermehrte Ausscheidung von Kynurensäure, Xanthurensäure und 3-Hydroxy-anthranilsäure ein. Die Ausscheidung von Tryptophan, Indolelessigsäure und 5-Hydroxy-indolelessigsäure ist sogar geringer als im Basalurin. Eine 2. Belastung 3 Wochen später bestätigt die Ergebnisse. Eine Deutung dieser Befunde ist z. Z. nicht möglich. Dieses Kind ist klinisch gesund, eine geistige und psychische Rückständigkeit muß jedoch festgestellt werden.

Die Tryptophan-Stoffwechseluntersuchungen bei dem 5. Kind (3 Monate alt) ergeben keine nennenswerten Besonderheiten. Prophylaktisch hatte das Kind seit seiner Geburt 10 mg Pyridoxin/Tag erhalten. Die Vitamin-B<sub>6</sub>-Gaben werden bei Klinikaufnahme abgesetzt. Die ab dem 5. Tag untersuchten Basalurine enthalten nur Kynurensäure (0,8—1,0 mg/24 Stdn.), Xanthurensäure wird nur sporadisch ausgeschieden (max. 0,2 mg/24 Stdn.). Die Ausscheidung von überwiegend nur einem Metaboliten des oxydativen Abbaus veranlaßte uns, 4 Tryptophan-Belastungen durchzuführen im zeitlichen Abstand von 6, 14 und 5 Tagen. Dabei zeigte sich, daß mit wiederholter Durchführung der Belastung die Ausscheidung der oxydativen Abbaumetabolite immer geringer wird, nur die Xanthurensäure-Ausscheidung nimmt zu. (10 Stdn. vor der 2. Belastung wurden einmalig 10 mg Pyridoxin oral gegeben.) Zur Prüfung dieser Befunde werden bei einem 7 Monate alten Kontrollsäugling 2 Belastungen im

Abstand von 5 Tagen durchgeführt. Die vermehrt ausgeschiedenen Metabolite differieren bei beiden Belastungen um  $\pm 10\%$ . Ob der Abnahme der Metaboliten-Ausscheidung bei dem 5. Kind eine besondere Bedeutung zukommt, kann nicht gesagt werden.

### Diskussion

Die Pathogenese der Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfe ist bis heute völlig ungeklärt. Untersuchungen haben keinen Anhalt für eine Störung des Pyridoxin-Stoffwechsels geliefert. Ein Zusammenhang zwischen diesen Krämpfen und dem Vitamin B<sub>6</sub> kann überzeugend nur aus der einen Tatsache abgeleitet werden, daß diese Krämpfe innerhalb von Minuten durch eine hohe Vitamin-B<sub>6</sub>-Dosis kupiert werden können. Die Dauertherapie führt zu einer normalen Entwicklung des Säuglings. Bei gleicher Symptomatik muß zwischen Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen und Vitamin-B<sub>6</sub>-Mangelkrämpfen unterschieden werden.

Tab. 3  
Differenzierung zwischen Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen und Vitamin-B<sub>6</sub>-Mangelkrämpfen

	Vitamin-B <sub>6</sub> -abhängige Krämpfe	Vitamin-B <sub>6</sub> -Mangelkrämpfe
Symptome	Hyperirritabilität — Berührungsempfindlichkeit — generalisierte tonisch-klonische Krämpfe	Hyperakusis — generalisierte tonisch-klonische Krämpfe
Krampfbeginn	1. bis 10. Lebenstag, evtl. vor und unter der Geburt	1. bis 4. Monat
Erforderliche Vitamin-B <sub>6</sub> -Dosis	hohe Dosen bis 80 mg/Tag	0,2 bis 1,4 mg/Tag
Folgen einer verspäteten Therapie	schwere Cerebralschäden	?
Recidiv nach Therapieabbruch	nach 4—6 Tagen, selten später	nach 6 Monaten und später
Vererbung	autosomal-recessiv	nein
Ursache	endogen	exogen und endogen
Tryptophan-Belastung	normale Xanthurensäure Ausscheidung	erhöhte Xanthurensäure Ausscheidung

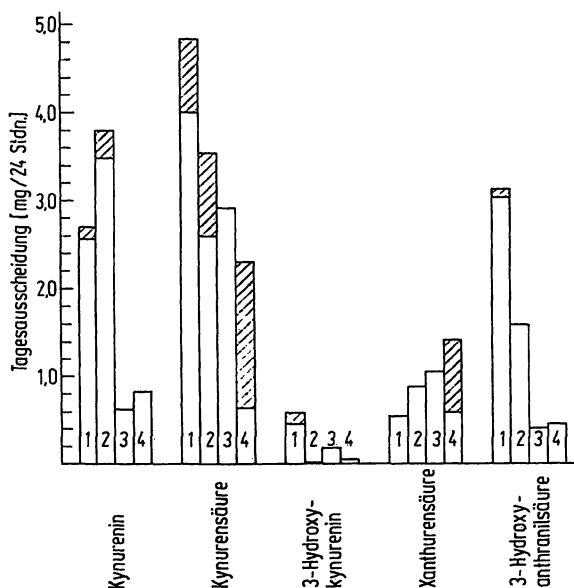


Abb. 7

Fünftes Kind (klinisch gesund): Vergleich der Ausscheidung der Tryptophan-Metabolite nach 4 Belastungen. Bei der 1. und 2. Belastung wurde der 24-Stdn.-Sammelurin getrennt in zwei 12-Stdn.-Portionen gesammelt, bei der 4. Belastung wurden die ersten 6 Stdn. getrennt gesammelt. (Zehn Stdn. vor der 2. Belastung wurden 10 mg Pyridoxin oral gegeben).

Abweichend von den meisten bisher berichteten Fällen traten die Krämpfe bei unserem Fall erst mit 3½ Monaten auf. Die frühzeitig eingesetzte Vitamin-B<sub>6</sub>-Dauertherapie führte zu einer normalen Entwicklung des Säuglings. Ein Auslaßversuch 3 Jahre später zeigte, daß diese Vitamin-B<sub>6</sub>-Abhängigkeit immer noch bestand: 12 Tage nach Therapieabbruch Grand-Mal Anfall. Die Untersuchung des Tryptophan-Stoffwechsels führt zu folgenden Ergebnissen:

Unter der Vitamin-B<sub>6</sub>-Dauertherapie ist eine im wesentlichen normale Ausscheidung der Metabolite festzustellen. Die Unterbrechung der täglichen Pyridoxin-Zufuhr führt zu einer verminderten Ausscheidung der Metabolite des oxydativen Abbaus.

Die hohe Pyridoxin-Dosis, die zur Kupierung des nach 12 Tagen auftretenden Grand-Mal-Anfalles injiziert wird, führt nicht wieder zu dem erwarteten normalen Ausscheidungsmuster wie es unter der Vitamin-B<sub>6</sub>-Dauertherapie erhalten wird. Sogar neun Tage nach dem Anfall werden keine Metabolite des oxydativen Abbaus ausgeschieden, obwohl die Dauertherapie wieder durchgeführt wird. Das Kind ist klinisch völlig

unauffällig, dennoch muß eine biochemische Störung weiter bestehen. Erst eine Urinuntersuchung am 21. Tag nach dem Anfall ergibt ein Ausscheidungsmuster, das identisch ist mit der 1. Untersuchung (Abb. 1, A) unter Dauertherapie. Die Normalisierung muß also zwischen dem 10. und 20. Tag eingetreten sein.

Abgesehen vom Tryptophan-Stoffwechsel ergibt die dünnschichtchromatographische Untersuchung der Urine vor, während und nach dem Krampfanfall keine nennenswerten Unterschiede (Abb. 1, C, D und E). Nur in dem Urin am Tage des Anfalles werden in der 1. Fraktion der säulenchromatographischen Urinauftrennung zahlreiche, z. T. instabile Substanzen festgestellt, die in den Urinen C und E nicht nachzuweisen sind. Infolge der zur Verfügung stehenden geringen Mengen konnten diese Substanzen nicht näher untersucht werden. Wird diese 1. Fraktion nach 3-tägiger Gefriertrocknung und Auflösung in physiologischer NaCl-Lösung in eine Maus injiziert, so ist eine auffällige motorische Unruhe des Tieres über 40 Min. zu beobachten. Ein Parallelversuch mit der 1. Fraktion aus Urin E verläuft ohne Wirkung auf das Verhalten des Tieres.

Die erst nach Absetzen der Vitamin-B<sub>6</sub>-Therapie ausgeschiedene und kurz vor dem Krampfanfall vermehrt im Urin nachzuweisende 8-Hydroxy-chinaldinsäure berechtigt zu der Vermutung, daß ein noch unbekannter Zusammenhang zwischen der Biogenese dieses Metaboliten und den Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen besteht.

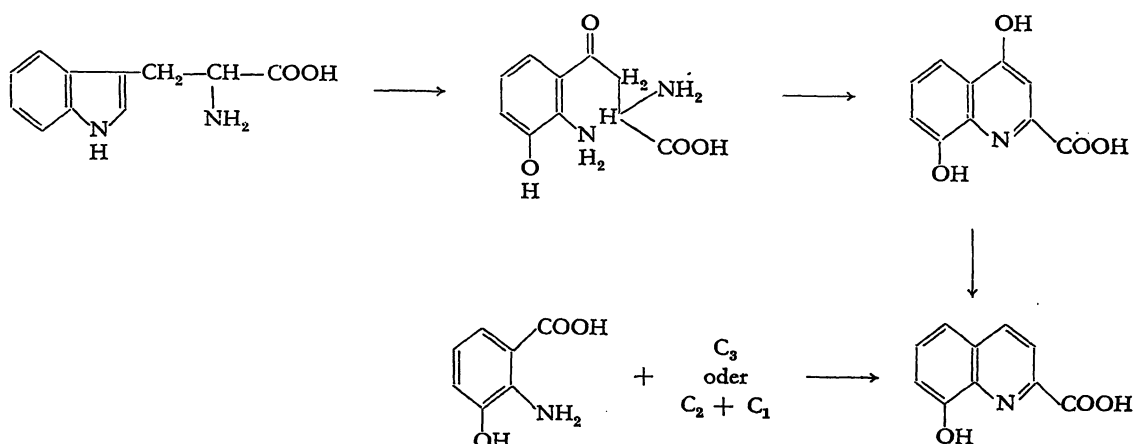
Nach der chemischen Struktur könnte die 8-Hydroxy-chinaldinsäure aus dem Metabolismus des Tryptophan abgeleitet werden, z. B. durch Dehydroxylierung in Stellung 4 der Xanthurensäure. Aber auch die Möglichkeit einer Biosynthese aus 3-Hydroxy-anthranilsäure muß diskutiert werden.

ROTHSTEIN und GREENBERG (15) fanden 1957, daß Xanthurensäure-[4-<sup>14</sup>C] bei der Ratte zu 100% als unverändertes Produkt und als Mono- und Diglucuronid in Konjugation mit Serin ausgeschieden wird. Zusätzliche Vitamin-B<sub>6</sub>-Gaben haben auf das Ergebnis keinen Einfluß. Dagegen stellte TAKAHASHI (16) 1958 eine geringe Umwandlung in der Ratte zu 8-Hydroxy-

chinaldinsäure-[4-<sup>14</sup>C] fest (2—4%). Der Nachweis dieses Metaboliten im menschlichen Urin nach Xanthurensäure-Belastung gelang nicht überzeugend, spektroskopische Angaben fehlen. 1962 wies KAIHARA (17) nach, daß markierte Xanthurensäure in Kaninchen zu 70—80% bei oraler und nur zu 3—10% bei subcutaner Injektion in die 8-Hydroxy-chinaldinsäure umgewandelt wird. Die Dehydroxylierung soll sogar weiter bis zur Chinaldinsäure verlaufen (1—2%). Dementsprechend stellte er bei der Verabreichung von Kynurensäure eine hohe Umwandlung zu Chinaldinsäure fest. Beim Menschen und bei der Ratte sollen 29% einer oralen Dosis Kynurensäure als Chinaldinsäure ausgeschieden werden (18). Nach intraperitonealer Injektion von markierter Kynurensäure fand MURACHI (19) bei Tierversuchen nur eine Umwandlungsrate von max. 5%. Ein neues Konjugat beschrieben KAIHARA und PRICE (20): 25% einer oralen Dosis Kynurensäure werden bei der Katze als Chinoldylglycyltaurin ausgeschieden, dagegen nur 1% bei subcutaner Injektion. Eine Hydroxylierung der Chinaldinsäure zu Kynuren- oder Xanthurensäure wurde bisher nicht beobachtet (21, 22).

Es kann als gesichert gelten, daß Chinaldin-, Kynuren- und Xanthurensäure im tierischen Organismus keinem Abbau des aromatischen Systems unterliegen. Demgegenüber steht die Fähigkeit von Bakterien, Kynurensäure über 7,8-Dihydroxykynurensäure in Glutaminsäure, Alanin, Essigsäure und CO<sub>2</sub> abzubauen (23). Der Mechanismus, über den die Dehydroxylierung der Kynuren- und Xanthurensäure verläuft, ist völlig unklar. Die Einwirkung von Darmbakterien ist nicht auszuschließen (24, 25).

In diesem Zusammenhang mögen die Dehydroxylierungen von Brenzcatechin-Verbindungen erwähnt werden: 3,4-Dihydroxybenzoesäure (26), 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure (27) und die 3,4-Dihydroxizimtsäure (28) werden in geringer Menge in die meta- bzw. para-Hydroxyverbindung umgewandelt. Nach partieller Reduzierung des aromatischen Ringes ist hier als Zwischenstufe ein *trans*-Diol anzunehmen, aus dem sich durch Wasserabspaltung die mono-Hydroxyverbindung bildet.



Unter der Annahme, daß im Verdauungstrakt durch Darmbakterien die Dehydroxylierung der Xanthurensäure zu 8-Hydroxy-chinaldinsäure erfolgt, erhebt sich die Frage, warum diese Umwandlung bei dem von uns untersuchten Fall mit Vitamin-B<sub>6</sub>-abhängigen Krämpfen erst nach Absetzen der Vitamin-B<sub>6</sub>-Therapie einsetzt. Ein Zusammenhang zwischen Vitamin B<sub>6</sub> und der Tätigkeit der Bakterien ist nicht bekannt. In den letzten vier 24 Std.-Urinen vor dem Krampfanfall sind etwa 15 mg 8-Hydroxy-chinaldinsäure ausgeschieden worden, dagegen nur sehr geringe Mengen von Xanthurensäure. Bisher ist es uns nicht gelungen, diesen Metaboliten im Urin von Kindern und Erwachsenen ein-

deutig nachzuweisen. Auch Hydrolyse des Urins führte zu keinem positiven Nachweis.

Die Ableitung der 8-Hydroxy-chinaldinsäure aus dem Tryptophan-Stoffwechsel müßte u. E. bei unserem beschriebenen Fall durch einen Versuch mit markierten Tryptophan überzeugend bewiesen werden. Aus humanitären Gründen können aber die Versuchsbedingungen bei dem Kind nicht wiederholt werden.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Herrn Dr. SEIDL (BASF, Ludwigshafen) danke ich für die Durchführung der massenspektroskopischen Untersuchungen und des NMR-Spektrums.

### Literatur

1. HINKEL, G. K., H. W. KINTZEL und A. KNAPP, Schweiz. med. Wschr. 100, 1152 (1970). — 2. SCRIVER, CH. R., Pediatrics, Springfield, 26, 62 (1960). — 3. GENTZ, J., A. HAMFELT, S. JOHANSSON, S. LINDSTEDT und B. PERSON, Acta Paediatrica Scand 56, 17 (1967). — 4. KRUSE, R., W. KOCHEN und D. FEIST, Neuropaediatric i. Druck. — 5. KOCHEN, W. und K. HOCHBERG, Zschr. Krebsforsch. 73, 25 (1970). — 6. KOCHEN, W., in Vorbereitung. — 7. SCOTT, I. A., Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products. In: Barton, D. H. R. und Doering, W., Intern. Series of Monographs of Organic Chemistry, Vol. 7, Pergamon Press, Oxford-London-Edinburgh-New York-Paris-Frankfurt (1964). — 8. BIRINGER, H., Diss. Heidelberg 1969 (Untersuchungen über die Wehrchemie des Schwimmkäfers Ilybius Fenestratus). — 9. NAKANISHI, K., Infrared Absorption Spectroscopy, Holden Day, Inc., San Francisco und Nankodo Comp. LTD, Tokyo (1962). — 10. EMERY, E. M., Analytic. Chem. 32, 1495 (1960). — 11. BUDZIKIEWICZ, H., C. DJERASSI und D. H. WILLIAMS, Mass Spectrometry of Organic Compounds, Holden Day, Inc., San Francisco-London-Cambridge-Amsterdam (1967). — 12. SPITELLER, G. Massenspektrometrische Strukturanalyse organischer Verbindungen, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. (1966). — 13. SUHR, H., Anwendung der kernmagnetischen

Resonanz in der organischen Chemie, Springer Verlag, Berlin (1965). — 14. IRVING, H. und A. R. PINNINGTON, J. Chem. Soc. 3782 (1954). — 15. ROTHSTEIN, M. und D. M. GREENBERG, Arch. Biochem. Biophysics 68, 206 (1957). — 16. TAKAHASHI, H. und J. M. PRICE, J. biol. Chemistry 233, 150 (1958). — 17. KAIHARA, M. und J. M. PRICE, J. biol. Chemistry 237, 1727 (1962). — 18. TAKAHASHI, H., M. KAIHARA und J. M. PRICE, J. biol. Chemistry 223, 705 (1956). — 19. MURACHI, T., K. TSUKADA und O. HAYAISHI, Biochemistry, USA, 2, 304 (1963). — 20. KAIHARA, M. und J. M. PRICE, J. biol. Chemistry 236, 508 (1961). — 21. ELLINGER, A. und Z. MATSUOKA, Hoppe-Seyler Z. physiol. Chem. 109, 259 (1920). — 22. KAIHARA, M., J. biol. Chemistry, 235, 136 (1960). — 23. TANIUCHI, H. und O. HAYAISHI, J. biol. Chemistry, 238, 283 (1963). — 24. BOOTH, A. N., Proc. Soc. exp. Biol. Med. 120 (2), 546 (1965). — 25. KAIHARA, M. und J. M. PRICE, J. biol. Chemistry. 238, 4082 (1963). — 26. DEEDS, F., A. N. BOOTH und F. T. JONES, J. biol. Chemistry, 225, 615 (1957). — 27. BOOTH, A. N., C. W. MURRAY, F. DEEDS und F. T. JONES, Federation Proc. 14, 321 (1955). — 28. BOOTH, A. N., O. H. EMERSON, F. T. JONES und F. DEEDS, J. biol. Chemistry, 229, 51 (1957).

Dr. W. Kochen  
Univ. Kinderklinik, Isotopenabt.  
69 Heidelberg,  
Hofmeisterweg